第13回 HLA-QC ワークショップレポート

第 13 回 HLA-QC ワークショップレポート —全体経過およびサンプルの総合結果—

田中秀則，中島文明（日本赤十字社　血液事業本部　中央血液研究所）
日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会#

#：日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員：田中秀則[1]，太田正穂[2]，木村彰方[3]，高　陽淑[4]，佐田正晴[5]，佐藤　壯[6]，中島文明[1]，成瀬妙子[3]，橋口裕樹[7]，森島泰雄[8]，安波道郎[9]，山本　賢[10]（所属：[1]日本赤十字社中央血液研究所，[2]信州大学医学部，[3]東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野，[4]大阪府赤十字血液センター，[5]国立循環器病センター再生医療部，[6]札幌北楡病院臨床検査課，[7]福岡赤十字病院，[8]愛知県がんセンター中央病院・血液細胞療法部，[9]長崎大学熱帯医学研究所，[10]国立循環器病センター臨床検査部）

1. ワークショップの経過

認定制度委員会が主催する本年度の HLA-QC ワークショップ（QCWS）は，大会長主催を含めると通算 13 回目の QCWS となった。平成 19 年 11 月から QCWS 部会において今年度の方針について討議し，昨年同様 HLA-DNA タイピングの QC（DNA-QC）と HLA 抗体検査の QC（抗体 QC）を実施することとした。また，参加施設を輸血，臓器移植，造血幹細胞移植，その他に分類し，各部門における QCWS の結果解析を行うこととし，部会員の中から輸血，臓器移植，造血幹細胞移植の担当を決定した。

開催の案内・参加の申し込みは，MHC 誌上及び学会ホームページ上に「第 13 回 QCWS の案内」として平成 21 年 1 月に掲載した。平成 21 年 3 月 6 日の締め切りまでに，68 施設，172 名の参加申し込みがあった。参加者との連絡およびデータ収集は，原則として電子メールにより連絡することとで運営した。また，平成 20 年 2 月より QCWS 部会員による電子メールによる討議で得られたテーマに基づいて具体的なサンプルの選定を行った。

ついで，4 月上旬から中旬にかけて，同意書・誓約書を得た後に施設を単位としてサンプルを発送した。5 月上旬にデータ入力フォーマットを送付し，6 月上旬のデータ送付締め切りまでに 63 施設からデータが回収された。生データおよび取りまとめた結果を各解析担当者に送付し，8 月下旬まで解析が行われた。前回と同様に，解析結果を参加者に直接配布するのではなく，学会のホームページ（以下，HP）解析結果を順次掲載し，参加者が必要に応じてダウンロード出来る形式とした。

2. QCWS のテーマ

組織適合性技術者認定制度の主旨にそった QCWS のテーマを QCWS 部会で検討した結果，DNA-QC 部門では，① 正確な DNA タイピング出来ること（4 桁アリルが判定されること），② DNA タイピング結果の表記を正しく表記すること（学会の表記法に従い正確に表記すること），③ DNA タイピング結果に対応した HLA 抗原型を正確に読替えること（DNA 結果から HLA 抗原型が正確によみ表記すること），抗体 QC 部門では，① エピトープと許容抗原により正確な抗体特異性解析を目指す，② 非特異成分（反応）の排除が適切に行なえること，③ HLA-C 座抗原に対する抗体特異性が検出可能であること，④ Ig サブ

クラスの抗体がそれぞれ検出可能であること，⑤HLA 以外に MIC に対する抗体が検出可能であることをテーマとした。用いた検体の詳細は以下のサンプルの総合結果で概説する。また，抗体-QC ではクロスマッチ検査方法について検討を行うこととし，① 配布検体の一部を使用しクロスマッチ試験の現状を把握する，② 今回は予備調査という位置づけで，任意参加とすることとした。

なお，今年度のデータ解析においては，QCWS 部会メンバー以外に広く参加を求めることとした。

3. 参加者数および参加施設

参加者は総数 203 名，78 施設（当日参加 34 名，10 施設）となった。また，DNA-QC 試料配布は 58 施設，抗体-QC 試料配布施設は 36 施設であった。

参加施設名：北里大学病院・臨床検査部，富山大学附属病院輸血・細胞治療部，広島県赤十字血液センター・技術部検査課，宮城県赤十字血液センター・検査一課，東海大学医学部附属病院・細胞移植再生医療科，日本赤十字社中央血液研究所・研究開発部，岐阜大学病院・検査部，福岡赤十字病院・検査部，日本赤十字社九州血液センター・検査二課，岡山県赤十字血液センター・検査課，自治医科大学附属病院輸血・細胞移植部，NPO 法人腎泌尿器疾患研究所，東京都赤十字血液センター・検査部，株式会社リプロセル FCM・臨床検査グループ，大阪府赤十字血液センター・検査部，長野赤十字病院・検査部，湧永製薬株式会社・バイオ事業開発部，香川県立中央病院・中央検査部，医療法人立川メディカルセンター，立川綜合病院・臨床検査科，山形県立中央病院・輸血部，九州大学病院遺伝子・細胞療法部，山形県立救命救急センター・山形県移植検査センター，東京女子医科大学腎臓病総合医療センター・移植免疫研究室，高知医療センター・MCM 検査室，大阪市立大学医学部附属病院・輸血部，株式会社ビー・エム・エル・特殊分析部，関西医科大学病院・輸血部，金沢医科大学病院・北陸腎移植 HLA 検査センター，株式会社エスアールエル・臨床検査事業品質保証部，札幌北楡病院・臨床検査科，広島県赤十字血液センター・製剤課，公立大学法人横浜市立大学附属病院・輸血細胞治療部，三重県赤十字血液センター・安全管理担当，株式会社ベリタス技術営業部，徳島大学病院・輸血部，名古屋第二赤十字病院・医療技術部，北海道大学病院・検査輸血部，株式会社医学生物学研究所・応用技術部，近畿大学医学部附属病院・輸血部，岐阜赤十字病院・検査課，財団法人鷹揚郷腎研究所・化学実験室，広島大学病院・輸血部，松江赤十字病院・検査部，仙台社会保険病院・研究部，金沢医科大学・代替基礎医学，岩手医科大学附属病院・中央臨床検査部，愛知県赤十字血液センター・検査二課，福島県立医科大学附属病院・輸血・移植免疫部，姫路赤十字病院・検査部，国立病院機構千葉東病院・研究検査科，静岡県立総合病院・総合診療部，京都大学医学部附属病院・検査部，株式会社保健科学研究所・特殊分析センター，特定非営利活動法人 HLA 研究所，信州大学医学部・法医学教室，虎の門病院・輸血部，東京大学医学部附属病院・輸血部，熊本大学医学部附属病院・輸血細胞治療部，東海大学・医学部基礎医学系分子生命科学，国立循環器病センター・臨床検査部，熊本県赤十字血液センター・総務課，北海道赤十字血液センター・検査部，大分県立病院・臨床検査技術部，東海大学・医学部教育研究支援センター，新潟市民病院・臨床検査科，佐賀県立病院好生館・検査科，三菱化学メディエンス株式会社・遺伝子検査部，京都大学医学部附属病院・輸血細胞治療部（以上のべ 68 施設）

4. 解析担当者

今年度のデータ解析担当者（所属）と分担項目は以下の通りである。

4.1. 部門別解析

1) 輸血部門

① 概要と解析の考え方について：高　陽淑（大阪府赤十字血液センター）

② DNA タイピング：黒田ゆかり（日本赤十字社九州血液センター）

③ 抗体検査（血液センター）：平田康司（岡山県赤十字血液センター）

④ 抗体検査（医療機関）：山岡　学（関西医大学付属病院大滝井病院）

⑤ クロスマッチ：中島文明（日本赤十字社中央血液研究所）

2) 臓器移植部門

① DNA タイピング：中山みゆき（九州血液センター）

② 抗体部門（Flow PRA）：石塚　敏（東京女子医科大学腎臓病総合医療センター）

③ 抗体部門（AbScreen LAT）：佐藤　壮（札幌北楡病院）

④ クロスマッチ：山本　賢（国立循環器病センター）

3) 造血幹移植部門

① DNA タイピング：加藤　道（愛知県赤十字血液センター）

② 抗体解析：杉本達哉（東海大学医学部付属病院）

4.2. DNA 結果表記ついて：太田正穂（信州大学医学部法医学）

4.3. 検査法別解析

1) FCM による抗体検査法の解析

① FlowPRA 法の検査状況の解析：佐藤　壮（札幌北楡病院）

② LIFT 法および FCXM の検査状況の解析：宮崎　孔（北海道赤十字血液センター）

2) Luminex による抗体検査

① Lab Screen による抗体検査：高　陽淑（大阪府赤十字血液センター）

② WAK Flow および ICFA による抗体検査：関根みゆき（東京都赤十字血液センター）

3) DNA タイピング

① DNA 検査法の概要（Luminex，SBT 以外）：橋口裕樹（福岡赤十字病院）

② Luminex（SSO）法について：大沼　豪（HLA 研究所）

③ SBT 法について：吉川枝里（東海大医学部）

各解析担当からの結果は終了後順次学会 HP に掲載し，QCWS に参加していない方も QCWS の解析結果を閲覧出来る様にした。また，参加者自身が QCWS 集会までに結果を検討できるように，試料の構成および生データ資料を CDR で各施設に配布し，参加者が自施設の結果を再検討出来る様にした。

5. サンプルの総合結果

本ワークショップで解析されたデータに基づき，DNA および抗体サンプルの総合結果を示す。DNA サンプルは，SBT データを基準に SSO など他法を参照し Ambiguity 状態を回避する方向で総合的にリアサインした。解析解像度は IMGT/HLA Database Sequence Alignments based on Release 2.26.0 (July-2009)，表記は本学会 HLA 標準化委員会の表記ルール（2003 年度版）に則り記載した。なお，HLA-DRB3,4,5 および DQA データは中央血液研究所による参考データである。（表 1）　また，抗体サンプルは，検査方法別に各抗原に対する反応状態を簡略化して示した。（表 2）　それぞれ，各施設の精度管理，技術訓練に役立てば幸いである。

表 1. 13th. QCWS HLA-DNA typing: consensus results

ID	HLA-A		HLA-B		HLA-C		HLA-DR	
H2101	*A*2603*	-	*B*3501/04/24/+*	*B*5101/02/04/+*	*Cw*030301*	*Cw*140201*	*DRB1*130701*	*DRB1*140301*
	A26	**-**	**B35**	**B51**	**Cw9**	**Cw7**	**DR13**	**DR1403**
H2102	*A*2602*	*A*310102*	*B*1501/70*	*B*390202*	*Cw*0303/43*	*Cw*0702/29/50*	*DRB1*1401/54*	*DRB1*1406*
	A26	**A31**	**B62** ※	**B3902**	**Cw9**	**Cw7**	**DR14**	**DR14**
H2103	*A*020101*	*A*020601*	*B*270401*	*B*670102*	*Cw*0702/50*	*Cw*150201*	*DRB1*0405*	*DRB1*090102*
	A2	**A2**	**B27**	**B67**	**Cw7**	**-**	**DR4**	**DR9**
H2104	*A*0302*	*A*240201*	*B*0702/26/61*	*B*1302/18*	*Cw*060201*	*Cw*0702/50*	*DRB1*010101*	*DRB1*070101*
	A3	**A24**	**B7**	**B13**	**Cw6**	**Cw7**	**DR1**	**DR7**

ID	HLA-DRB345		HLA-DQA		HLA-DQB		HLA-DP	
H2101	*DRB3*0101*	*DRB3*0202*	*DQA1*0501/05/09*	*DQA1*0503/07*	*DQB1*030101*	-	*DPB1*020102*	-
	DR52	**DR52**	nd	nd	**DQ7**	**-**	**DPw2**	**-**
H2102	*DRB3*0202*	-	*DQA1*0101/04/05*	*DQA1*0503/07*	*DQB1*030101*	*DQB1*050301*	*DPB1*0501*	-
	DR52	**-**	nd	nd	**DQ7**	**DQ5**	**DPw5**	**-**
H2103	*DRB4*0101/03/06*	-	*DQA1*0302/03*	-	*DQB1*030302*	*DQB1*0401*	*DPB1*0301//+*	*DPB1*0901//+*
	DR53	**-**	nd	nd	**DQ9**	**DQ4**	nd	nd
H2104	*DRB4*0101/03/06*	-	*DQA1*0101/04*	*DQA1*0201*	*DQB1*0201/02/04*	*DQB1*050101*	*DPB1*0501//+*	*DPB1*0901//+*
	DR53	**-**	nd	nd	**DQ2**	**DQ5**	nd	nd

Upper : Allele type
Lower : HLA type

※ タイピング結果にB*15010102Nが含まれるので，抗原名表記は暫定的なもの

表 2. 13th. QCWS HLA-antibody specificities: consensus results

SH2101	A24	A23	A25	A32	A1	A2	A30	A69	A80	A11	A68	A3	A36	B44	B45	B76	B82	DR7	DR9	DR10	DR12	DR53	DP	Cw7 IgM	MICA IgG	MICA IgM
LS-SA	8	8	8	8	8	4	4	4	4	4	4	2	2	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	4	8	8
FP-SA	8	8	8	8	8	4	4	4	-	2	2	4	1	4	8	8	4	8	8	8	8	-	8			
WAKFlow	8	-	-	-	8	4	2	-	-	2	8	2	-	4	-	-	-	8	8	8	8	-	8			
ICFA	8	-	-	-	8	1	-	-	-	1	-	1	-	4	-	-	-	-	8	-	8	8	-			
LIFT	8	-	-	-	4	4	1	-	-	2	-	1	-	1	-	-	-									
AHG-LCT	8	-	-	-	4	4	1	-	-	1	-	1	-	1	-	-	-									
LCT	8	4	1	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	-	-									
MPHA	8	-	-	-	-	4	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-									

SH2102	B60	B61	B48	B13	B7	B27	B44	B45	B41	B42	B47	B8	B49	B50	B73	B81	A66 A*6602	Cw2	Cw17	Cw9	Cw10	B38	B39	B67	B55	B54	B59	A29	MICA IgG	MICA IgM
LS-SA	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	4	4	4	4	4	8	4	4	2	2	1
FP-SA	8	8	8	4	8	8	8	8	8	4	8	4	8	8	4	8	-	8	4	4	4	1	1	1	4	2	2	2		
WAKFlow	8	8	8	8	8	8	8	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	2	2	-	2	2	2	-		
ICFA	8	-	-	-	8	8	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	1	4	4	1	4	4	-	-		
LIFT	8	8	8	8	8	8	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	1	2	2	4	2	2	2	-		
AHG-LCT	8	8	8	8	8	8	4	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	1	2	2	1	2	1	1	-		
LCT	8	8	2	8	2	1	1	1	4	1	-	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
MPHA	8	8	8	-	8	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	4	-	-	2	-	-		

SH2103	Cw1	Cw14	B73	B27	B7	B42	B81	B46	Cw9	Cw10	Cw18	Cw4	Cw5	Cw6	DQ7	DR12	DR7	B27 IgM	B61 IgM	MICA IgG	MICA IgM
LS-SA	8	8	8	8	4	4	4	4	4	4	4	4	4	2	8	8	4	8	4	8	8
FP-SA	8	8	8	4	2	2	1	4	4	4	4	4	4	1	8	8	8				
WAKFlow	4	1	-	1	1	-	-	1	1	1	-	1	-	1	4	1	1				
ICFA	8	8	-	1	1	-	-	1	1	1	-	1	-	1							
LIFT	8	8	-	1	1	-	-	1	1	1	-	1	1	1							
AHG-LCT	8	2	-	1	1	-	-	1	1	1	-	1	-	1							
LCT	8	1	1	1	1	1	-	1	1	1	1	1	1	1							
MPHA	8	2	-	-	1	-	-	1	1	1	-	-	-	-							

SH2104	B44 B*4402	B75 B*1502	Cw15	B13	MICA IgG	MICA IgM
LS-SA	8	4	4	2	4	8
FP-SA	8	2	4	4		
WAKFlow	-	-	1	1		
ICFA	-	-	1	1		
LIFT	-	-	1	1		
AHG-LCT	-	-	1	1		
LCT	1	1	1	1		
MPHA	-	-	1	-		

8 Strong positive
4 Weak or several positive
1 Negative
- No data

LS-SA : LABScreen Single Antigen
FP-SA : FlowPRA Single Antigen

MICA : using LABScreen Mixed

第13回 HLA-QCワークショップレポート —部門別解析：輸血部門—

高　陽淑[1]，黒田ゆかり[2]，平田康司[3]，山岡　学[4]，中島文明[5]

[1]大阪府赤十字血液センター，[2]日本赤十字社九州血液センター，[3]岡山県赤十字血液センター，[4]関西医大学付属病院大滝井病院，[5]日本赤十字社中央血液研究所

1. 輸血部門解析の主旨（高　陽淑：大阪府赤十字血液センター）

輸血部門に参加した25施設を検査の目的が同じであるグループとして，医療機関，血液センター，検査施設，メーカーに分類し，グループ内の現状と問題点について解析・整理した。ただし，方法別解析を別に設定している事から技術面での解析には重点を置いていない。参加施設の構成と検査目的および，他部門との関わりについては，学会HP「13回QCワークショップ報告集」の「輸血関連　概要」に示す。また，各解析担当からの解析結果を以下に報告する。

2. 輸血部門DNAタイピング（黒田ゆかり：日本赤十字社九州血液センター）

2.1. はじめに

輸血部門において，結果報告数の多かったHLA-A, B, CおよびDRB1について総合判定データを解析した。各施設より提出された総合判定にコンセンサスアリルと同様の表記が含まれるものを正解とし，施設別，方法別の2方向から正解率を中心に解析した。

2.2. 結果（学会HP「13回QCワークショップ報告集」の「輸血関連　DNAタイピング」参照）

1)　方法別，施設別　検査結果報告数

HLA-A, B, C, DRB1において，1法のみで判定している施設は30施設中24施設，2法を用いた施設は6施設であった。実施検査項目は，HLA-A, B, C, DRB1が30施設中13施設と最も多く，Cローカスは4施設が未実施であるのに対し，DRB1については全施設で実施していた。

2)　施設別の正解率

輸血部門全体の総合正解率は96.0%であった。施設別の総合正解率は，いずれも90%を超えていたが，検体別では医療機関においてH2104の正解率が低く，A*0302で64.3%，B*1302で78.6%，Cw*0602で72.7%，Cw*0702で63.6%であった。また，輸血で必要となるクラスI（2桁）について正解率を算出した結果，血液センターで100%，医療機関では約97%と，正解率は全体的に高くなっていたが，一般的なHLA型であるA24, A26, B51等を検出できていない施設があった。

3)　方法別の正解率

データの偏りを考慮し，使用していた施設が多かったSBT法，Luminex（SSO）法，SSP法に絞りローカス別に比較すると，SSP法におけるH2104のA*0302の正解率は28.6%と最も低く，7施設中正解は2施設のみであった。また，クラスI（2桁）の正解率を算出し比較すると，Luminex法では100%，SSP法では約96%であった。

4)　アサインミス

アサインミスは4種類に分類でき，判定ミス（正しく反応していないことから誤判定となっている），判定不能（明らかな反応不良がある），表記ミス（正しく反応しているが誤判断から正解アリルを記載していない），転記ミス（各検査方法からの単純な転記間違い）とした。アサインミス（4桁）は全回答の4.0%に見られ，内訳は判定ミス1.7%，判定不能0.7%，表記ミス1.5%，転記ミス0.1%であり表記ミスが意外

と多かった。判定ミス16件のうち14件はSSP法に見られたが，原因として推奨濃度以下であったDNA検体の影響も考えられた。

2.3. まとめ

全体的に正解率は高かったが，本来100%正解可能なHLAタイプであることから，判定ミスがあったことへの危機感は持って欲しい。また，転記および表記ミスも誤報告となる重大なミスであることから，日本組織適合性学会HLA標準化委員会の「検査結果（ワークシート）記載法と結果報告書表記法およびアンビギュイティ（ambiguity）の取扱いの原則（2003年度改訂版）」を再度熟読し，さらに新表記についても確認していただきたい。

近年のDNAタイピング試薬および技術の向上により検査精度は向上したが，検査結果表記の複雑化が見られ，輸血部門においては正しいDNA検査結果表記だけでなく，正確なHLA型への読み替えや適切な運用上のHLA型の判断も求められる。

自施設の試薬の特性を熟知した上で使用し，様々な条件を考慮したタイピング方法の選択，適切な結果報告が可能である体制がとれていることが望ましいと考える。

3. 輸血部門抗体解析（平田康司：岡山県赤十字血液センター，山岡　学：関西医大滝井病院）

以下に示す表は，学会ホームページ「13回QCワークショップ報告集」の「輸血関連　抗体検査」に掲載しているのでご参照下さい。

3.1. はじめに

今回は「輸血」という観点から，血液センターと医療機関のグループを対象にHLAクラスI抗体解析を実施した。参加施設および方法を表1–1および表1–2に示す。各グループにおける抗体検査の主な目的が，医療機関は抗体の検出であることから「抗体の有無」について，血液センターはHLA適合血小板輸血適応の可否判断および許容抗原検索であることから「抗原別判定」について，参加施設間の一致率を重点的に解析した。

3.2. 結果

SH2101～2104の「抗体の有無」についての一致率を表2–1および2–2に示す。中でも，SH2104の一致率は医療機関で36.4%，血液センターで70%と低く，さらに生体試料を用いた検査との総合判定からHLA抗体以外の反応（non-HLA）も疑われた（表4）。また，血液センターグループ内で比較した抗原別判定結果では日本人集団での出現頻度0.1%の43抗原において4サンプル共に施設間差がみられた（表3）。

3.3. 問題点

医療機関では，原理の異なる複数の方法や健常者由来の多数の生細胞を日常検査として準備する事は経済的，人員的な問題からハードルが高く，現状では低力価の抗体検出が困難であると考えられた。一方，血液センターでは，殆どの施設で抗体検出における高感度化は進んでいるものの判定基準は標準化されておらず，HLA適合血小板供給のための許容抗原検索にも施設間差が反映されること等が問題点として挙げられる。

3.4. まとめ

輸血部門での最優先事項は輸血不応答症例に対してより有効な輸血を行う事である。その為には医療機関と血液センターがそれぞれの役割を果たし，相互連携する事が重要であろう。

具体的には，医療機関では，低力価抗体を保有する患者への対応として高感度法実施施設との連携体制の構築，血液センターでは精製抗原を用いた方法における判定基準の設定と，結果判定が困難なケース（non-HLA抗体との判別など）をフォローするためにも臨床的意義のあるクロスマッチの確立が今後の課題である。

4. 輸血部門クロスマッチ（中島文明：日本赤十字社中央血液研究所）

4.1. はじめに

本年度からQCWSでは，輸血や移植など部門別解析を導入した。これまでの抗体部門の結果解釈が，輸血や移植などで異なることが見えてきたからである。

QCWS は，DNA タイピングと抗体検査で運営されてきたが，クロスマッチについては把握してない。クロスマッチも多様な方法論で実施されていることを考えると，異なる部門で結果解釈に相違があることが想像される。また，あらたな部門別解析は試行錯誤の段階で，クロスマッチを導入することで解析方法の充実が図れると考えた。抗体の検出技術に加え，タイピング結果の扱いも関係するので，今後の部門別解析に有用であろう。なお，今回の実施方法と参加施設については，学会ホームページ「13 回 QC ワークショップ報告集」の「輸血関連　クロスマッチ」を参照されたい。

4.2. 結果

SH2101 の HLA 抗体特異性は A24 に確実な反応を示し，A2 と B44 は抗体検出方法によって反応を捉える場合と，そうでない場合がある。

クロスマッチは，どの施設も A24 細胞との反応は検出できていた。A2 に関しては全施設が抗体検査で検出していたにもかかわらず，クロスマッチでは 6 施設が陰性判定をしていた。B44 も抗体検査で 8 施設が検出しており，そのうち 5 施設が陰性判定をしていた。クロスマッチ方法として LCT，ICFA，LIFT すべて含まれ，A2 と B44 の陰性判定は施設（＝方法）による偏りはない。（表 5）

4.3. 考察

精製抗原による抗体試薬は検出感度が高い反面，自然抗体などのクロス反応を捉えている実態もある。一方，クロスマッチは細胞との反応であるため，細胞膜上のどの抗原分子の反応を検出しているか特定できない。少なくとも，Intact な抗原分子との反応であることから，不完全なクロス反応は検出しづらいと考えられるが，HLA 以外の反応（Non-HLA 抗体）を検出することもある。

今回のデータは，HLA 抗体陽性―クロスマッチ陰性のケースが見られた。A2，B44 の反応が自然抗体なのか，検出感度の違いなのか特定はできない。双方の検出感度がかけ離れていると問題であり，ICFA や LIFT（FCXM）で抗体検査の感度に近づけることは重要である。HLA のみをターゲット分子とするならば，正確なタイピングと高感度な抗体検査による仮想クロスマッチも選択肢となるが，輸血は HLA 抗体の変動と HLA 以外の未知要素が疑われるため，机上のクロスマッチでは不十分と考えられる。

今後は，輸血に加え臓器移植部門の参加を期待する。実施方法は同様に行う予定であるが，解析方法は，抗体検査の結果の導き方とクロスマッチ性能の比較，タイピングとクロスマッチの関連など視点を拡大し臨みたい。

表 5　クロスマッチ参加施設と実施内容

Lab ID	部門				クロスマッチ						抗体検査								抗体特異性（判定スコア）															
	輸血関連	臓器移植	造血細胞	その他	LCT	AHG-LCT	ICFA		LIFT FCXM		LCT, AHG-LCT	MPHA	PAKPLUS	ICFA	LIFT	FlowPRA	LABScreen	WAKFlow	A23	A24	A25	A32	A1	A80	B44	A2	A69	A68	A11	A30	B56	A3	B57	A36
					I	I	I	II	I	II																								
					GM	GM	G	G	G	G																								
21S07	○	○	○	○		6					○	○	○			○	○	○	8	8	8	8	8	8	8	8	1	1	1	1	1	1	1	1
21S28	○		○			11	11					○					○	○	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	1	1	1	8	1
21S12	○		○		8	8	8										○	○	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	1	8	8	1	1
21S10	○					8	8				○			○		○	○	○	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	1	1	1	1	1
21S13	○	○	○				9							○				○	0	8	0	0	4	0	4	4	0	4	1	1	1	1	0	0
21S02	○						11	11	4	3						○	○		8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	1	1	1
21S20	○	○	○						3							○			8	8	8	8	8	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	1
21S32	○								8			○			○	○	○	○	8	8	8	8	8	8	8	8	1	1	1	1	1	1	1	1
21S26	○								5			○						○	0	8	0	0	4	0	4	4	0	4	4	4	1	1	0	0
9	9	3	5	1	8	33	47	11	20	3	2	4	1	2	1	5	6	7																
					1	4	5	1	4	1																								

○は参加施設，最下段の太数字は参加施設数
クロスマッチ項目のI，IIはHLAクラス，GM は検出抗体のIgサブクラス
クロスマッチ項目の数字は反応させた細胞数，下段は方法別細胞数合計
抗体特異性項目の数字は判定スコア，反転部分はクロスマッチ陰性判定

第13回 HLA-QCワークショップレポート —部門別解析：臓器移植部門—

中山みゆき[1)]，石塚　敏[2)]，佐藤　壯[3)]，山本　賢[4)]

[1)]日本赤十字社九州血液センター，[2)]東京女子医科大学腎臓病総合医療センター，[3)]札幌北楡病院，[4)]国立循環器病センター

1. 臓器移植関連部門DNAタイピング（中山みゆき：日本赤十字社九州血液センター）

1.1. はじめに

臓器移植関連部門のDNAタイピングにおける総合判定データ解析をA, B, CおよびDRB1の正解率を中心として検討を行った。

各施設より提出された総合判定にコンセンサス アリル（2桁レベルおよび4桁レベル）と同様の表記が含まれるものを正解とし，正解率を算出した。不正解については，判定ミス・判定不能（主に試薬キットの問題）・表記ミス・転記ミス（主に判定者の問題）の4区分で解析した（区分詳細内容は輸血部門と同様）。

解析結果の詳細は，学会ホームページ「13回QCワークショップ報告集」の「臓器移植関連　DNAタイピング」（HP掲載結果）を参照されたい。

1.2. 参加施設

臓器移植関連部門参加：40施設

内訳は，血液センター：3施設，試薬メーカー：3施設，検査センター：6施設，医療機関：28施設，日常業務は臓器のみ：17施設，臓器と造血：8施設，臓器と輸血：2施設，全て：13施設であった。上記の中で，臓器移植ネットワーク検査施設が24施設あった。

1.3. 結果

1）検査方法・方法数とローカス別施設内訳別の検査結果報告施設数（HP掲載結果，表1）

データを提出した40施設の内，SSO法（Luminex, RELI）を使用している施設が最も多く，次いでSSP法が多く使用されていた。また，ローカス別ではA, B, DRローカス：40施設，Cローカス：20施設の報告であった。近年，臨床的に重要と言われているCローカスの報告施設は他部門（造血・輸血部門）と比較して少なかった。

2）検査方法・方法数・施設内訳と検査内容別の検査結果報告施設数（HP掲載結果，表2）

1方法のみで検査結果を報告した施設が30と最も多く，中でもSSO法のRELIを使用している施設が14施設あった。（RELIに関してはすべて臓器移植ネットワークの検査施設で使用されていた。）

2方法を用いた施設では，SSO法とSSP法もしくはSSO法とSBT法の組合せで検査を行った施設が大半を占め，この傾向は例年同様であった。SSO法とRFLP法の組み合わせが1施設あった。

検査ローカス別にみると，A, B, DRB1, DRB3/4/5の組み合わせが14施設と多く臓器移植部門として必要なローカスのみを選択していると考えられる。

3）各ローカス毎（対立遺伝子型毎）の検査方法・参加施設別正解率（HP掲載結果，表3，表4）

検査方法別において総合ではすべてのローカスにおいてほぼ90%以上の正解率を示したが個別では単独でSSP法，SSO法（RELI）を使用した場合正解率が低い傾向にあった。これについては他部門も同様な結果であった。特に正解率の低かったものについては後述する。参加施設別においてもすべてのローカスにおいてほぼ90%以上の正解率を示した。検査センター，試薬メーカーの各1例を除き不正解となったものは医療機関でありその中でも一部の施設にア

サインミスが多く認められ，技術や判定に習熟する必要性が感じられた。

4) 不正解施設のアサインミス原因調査（HP掲載結果，表5）

アサインミスのあった全38例の内訳はSSO-LABType 2例とSSO-ジェノサーチの1例以外はSSP法とSSO法（RELI）であった。

SSO-LABTypeの2例中1例は表記ミス。もう1例はH2101のCw*1402の判定ミスであった。原因としてこの施設のNo76のビーズのPositive Valueが19.36%（No76のCut off Valueは20%）であり弱陽性と誤判定したためと推測された。同一試薬・Lotを使用していた他2施設と比較すると全体的に値が高めにでており，DNA濃度が高いか洗浄操作や反応時間の不備等が考えられる。SSO-ジェノサーチは表記ミス。（同一試薬・Lotを使用した他2施設は問題なし）

SSO（RELI）の約60%が判定ミス，40%が表記ミスであった。SSO法では偽反応が多くみられた。昨年の解析でDRBキット#30のプローブのDRB1*0405での反応は，本来陽性だが反応が弱くスコアがばらつくと指摘されており，今年も同じくH2103のDRB1*0405において#30プローブが施設間でスコア2〜8とばらつきを認めた。引き続きDR4の判定の際には注意が必要である。

プローブの反応はPCR産物量・時間・温度管理・試薬調整・洗浄操作・振とうの有無等に問題なければ発色に差はでないと思われるが，判定する側の基準の差によりプローブの発色反応を陽性ととるか陰性ととるかが問題となってくる。

SSP法での35%が判定ミス，10%が判定不能，55%が表記ミスであった。アガロースゲル電気泳動によるSSP法はLuminexのような高価な設備を必要としないため採用されることが多い。しかしDNA濃度不足により陽性バンドが得られない場合や，再検査するためのサンプル量が十分量ではなく誤判定の要因になっている。特にH2104のA*0302のアサインミスが多かったが（正解は1/6施設，正解率16.7%）6例中2例が偽陰性による判定ミス，3例は表記ミス（反応は問題なくA*0302検出している）であった。またH2101のAローカスの場合SSP-JPNを使用すると，A*2601/02/03^{+}，−の他にA*2601/02/03^{+}とA*2501/2607/4301/$^{+}$のヘテロの組み合わせの可能性があるためそのような記載もしくはコメントを結果に記入する必要がある。（今回はコンセンサスアリルが含まれていることで正解としたが，このような記載をしている施設はなかった。）

1.4. 考察とまとめ

正確なタイピングのためには方法論の異なる2種類以上の検査法を用いることが望ましいとされるが，実際には単独使用を余議なくされる場合が多い。施設の規模により設備・人員・予算等に限界があり，必ずしも最善の検査体制を確立できないのが現状である。臓器移植部門は，造血・輸血部門と異なり慢性的なドナー不足のため現実的にはHLAの適合度があまり重要視されないこともあり，生体移植では参考程度となっている。一方，献腎・膵移植ではHLA型のミスマッチ数の少なさが移植候補者選択のポイントのひとつとなっており。臓器移植ネットワーク検査施設には検査の正確性だけではなく迅速性も要求される。

ただ依然として試薬の反応性には問題ないのに，データの転記ミス，反応パターンの読み取り間違い，表記ミスなどの人為的過誤が見受けられる。

今回は「正確なDNAタイピング技術と学会が規定した結果表記で記載すること」がテーマとなっているが，検査結果（ワークシート）記載法と結果報告書表記法の原則（2003年度改訂版）がまだ理解されていない。通常我々がタイピングを行う際には人種や家族背景（ハプロタイプ頻度），疾患名，移植の有無等の情報が得られるため参考にできるがQCWSではそのような情報が示されていないので，すべての可能性を考慮する必要がある。

今後臨床側に正確なタイピング結果を報告するためにも，新表記法の導入に伴う結果表記を正しく理解，解釈できるよう技術・知識をさらに深めることが重要課題であると思われた。

2. 臓器移植関連 抗体部門（FlowPRA）（石塚 敏：東京女子医科大学 腎臓病総合医療センター）

臓器移植関連の抗体部門（Flow PRA）では，

FlowPRA と LABScreen を中心に解析を行った。

各施設から報告して頂いたすべての判定スコアについては概要資料に集計を掲載した。今回，配布されたサンプルには正確な回答がないため，解析を行うにあたり判定保留または判定不可の抗体については解析から除外した。

データの解析方法は，各施設の判定スコアから陽性一致率，陰性一致率，判定保留率を求め，抗体の有無について統計学的に解析を行った。

2.1. FlowPRA Screening

HLAClass I IgG では，SH2104 で判定保留の報告が 5 施設あり，判定スコアの一致率は，SH2101，SH2101，SH2103 が 100%，SH2104 は 73% であった。

陽性率（最小値，最大値）は，SH2101（48.3%，90.84%），SH2102（50.20%，92.53%），SH2103（7.40%，48.60%），SH2104（0.40%，9.70%）と施設間において陽性率のバラツキがみられた。

HLA Class II IgG では，SH2102 で判定保留の報告が 1 施設あり，判定スコアの一致率はすべて 100% であった。

陽性率（最小値，最大値）は，SH2101（41.10%，86.60%），SH2102（0.30%，71.63%），SH2103（6.60%，74.70%），SH2104（0.20%，2.80%）と HLAClass I IgG 同様に施設間において陽性率のバラツキがみられた。SH2102 では，陽性率が 71.63% でありながら判定スコアを判定保留とした施設があったが原因調査までには至らなかった。

2.2. FlowPRA single

HLAClass I & II IgG の判定スコアでは，一部の抗体で 3 施設に判定保留の報告があった。全体の一致率から HLA 抗体の有無を解析した結果，4 つのサンプルで合計 15 抗体の判定不可があった。

2.3. LABScreen

HLA Class I IgG では，SH2104 のサンプルで判定保留が 3 施設あり，判定スコアの一致率は，すべて 100% であった。HLA Class II IgG では，SH2104 で判定保留が 2 施設あり，これらの 2 施設では，HLA Class I IgG についても判定保留で報告されていた。判定スコアの一致率は，SH2104 で 91.7%，SH2101，SH2102，SH2103 で 100% であった。

2.4. LABScreenPRA

QCWS では，PRA% の報告はなかったが，csv ファイルから解析を行った。参加施設が少数ではあったが，HLA Class I IgG の SH2104 で一致率 75% であり，その他はすべて HLA Class II も含め一致率 100% であった。陽性率は，各施設で大きな差はなく，FlowPRA screening より安定した結果であった。

2.5. LABScreen single

HLAClass I & II IgG の判定スコアでは，一部の抗体で 7 施設に判定保留の報告があった。判定保留抗体では，各施設によってカットオフの基準値が異なっている傾向があった。全体の一致率から HLA 抗体の有無を解析した結果，4 つのサンプルで合計 2 抗体の判定不可があった。

2.6. FlowPRA と LABScreen single IgG の比較（表 1–4）

一致率の解析から得られた 2 法による結果は，SH2101 で 6 抗体が不一致であった。recombinant 抗原の 4 ケタのアリルでみても全く同じ抗原であるため，乖離した原因は把握出来なかった。FlowPRA では，判定保留が 2 抗体あり，解析可能であった 101 抗体中 6 抗体が不一致で，一致率は 94.1% であった。

SH2102 では，6 抗体が不一致であった。4 ケタのアリルでみると 5 抗体については全く同じ抗原であり，乖離した原因は把握出来なかった。しかし，A66 に関しては FlowPRA で A*6601，LABScreen で A*6601 と A*6602 の 2 抗原あり，LABScreen の蛍光値でみると A*6601 よりも明らかに A*6602 は蛍光値が高く，不一致の原因であることが示唆された。FlowPRA では，判定保留が 3 抗体あり，解析可能であった 76 抗体中 6 抗体が不一致で，一致率は 92.1% であった。

SH2103 では，3 抗体が不一致であった。4 ケタのアリルでみても全く同じ抗原であるため乖離した原

因は把握出来なかった。FlowPRAでは，判定保留が9抗体，LABScreenでは2抗体あり，解析可能であった92抗体中3抗体が不一致で，一致率は96.7%であった。

SH2104では，1抗体が不一致であった。B75はFlowPRAでB*1502，LABScreenでB*1502とB*1511の2抗原があった。LABScreenの蛍光値でみるとB*1502では施設によって蛍光値が20から1803と大きな差があり，B*1511よりは蛍光値が全体に高めだった。各測定法の一致率も悪いことから，判定が困難であったことが推測された。FlowPRAでは，判定保留が1抗体あり，解析可能であった78抗体中1抗体が不一致で一致率は98.7%であった。

表1 FlowPRAとLABScreen single IgGの比較 (SH2101)

FlowPRA		LABScreen	
A*0301	陽性(62.5%)	A*0301	陰性(78.6%)
A*3001	陰性 (100%)	A*3001	陽性(85.7%)
A*6901	陰性 (100%)	A*6901	陽性(73.3%)
A*8001	陰性 (100%)	A*8001	陽性 (100%)
B*4501	陽性 (100%)	B*4501	陰性 (100%)
B*8201	陰性 (100%)	B*8201	陽性 (100%)

表2 FlowPRAとLABScreen single IgGの比較 (SH2102)

FlowPRA		LABScreen	
A*2601	陽性(75.0%)	A*2601	陰性 (100%)
A*3101	陽性(85.7%)	A*3101	陰性(92.9%)
A*6601	陰性 (100%)	A*6601, A*6602	陽性 (100%)
B*3801	陰性(62.5%)	B*3801	陽性(80.0%)
B*3901	陰性 (100%)	B*3901	陽性(85.7%)
B*6701	陰性 (100%)	B*6701	陽性 (100%)

	LABScreen		
施設番号	A*6601	A*6602	スコア
21S02	437	9643	8
21S03	284	11021	8
21S07	122	13308	8
21S08	246	15573	8
21S09	10	4442	8
21S10	108	11999	8
21S11	214	16386	8
21S12	179	16162	8
21S15	144	14917	8
21S24	172	12042	8
21S28	222	15497	8
21S32	142	15019	8
21S34	289	12707	8
21S35	175	17511	8
21S36	152	12388	8

Trimmed Mean

表3 FlowPRAとLABScreen single IgGの比較 (SH2103)

FlowPRA		LABScreen	
Cw*1802	陰性 (100%)	Cw*1802	陽性(78.6%)
B*4201	陰性(75.0%)	B*4201	陽性(64.3%)
DRB1*1501, DRB1*1502	陽性(60.0%)	DRB1*1501, DRB1*1502	陰性(83.3%)

表 4 FlowPRA と LABScreen single IgG の比較 (SH2104)

FlowPRA		LABScreen	
B*1502	陽性(66.7%)	B*1502, B*1511	陰性(71.4%)

LABScreen

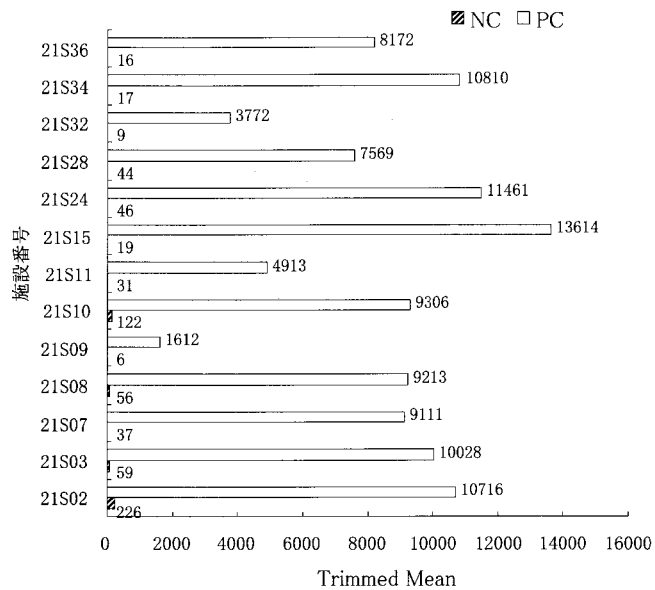
施設番号	B＊1502	B＊1511	スコア
21S02	1045		8
21S03	1803		8
21S07	727	107	1
21S08	1348	212	4
21S09	20	23	1
21S10	284	110	1
21S11	678	147	8
21S15	438	78	1
21S24	1026	109	8
21S28	398	104	1
21S32	787	134	1
21S34	688		1
21S35	976	126	1
21S36	622	104	1

Trimmed Mean

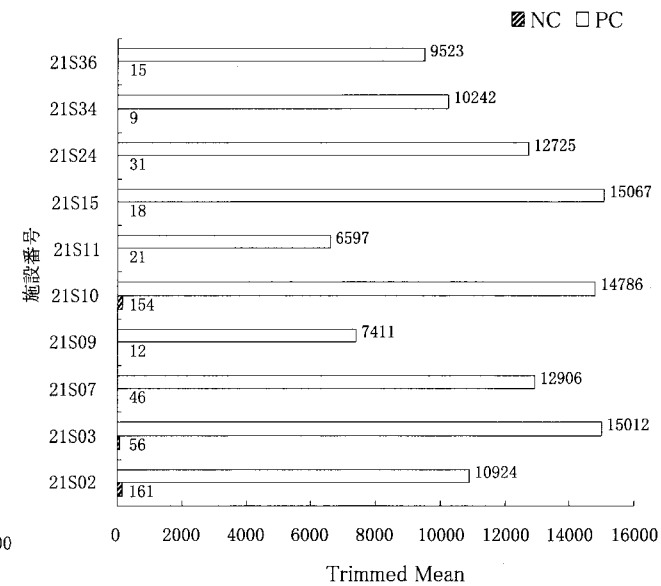
2.7. LABScreen single IgG の蛍光値解析

LABScreen の自動解析ソフトでは Baseline 法や Ratio Scoring 法などが主流である。今回は，参加された全施設の蛍光値 (Trimmed Mean) について解析を行った。Luminex ビーズの 1 番はヌルビーズで negative control (NC) である。Luminex ビーズの 2 番は HLA 抗原ではなく 1 次抗体として IgG が結合してあり，必ず 2 次抗体 IgG が反応する positive control (PC) である。図 1 に示すように各施設のコントロール血清の NC では，ほぼ全施設許容範囲内の蛍光値を示していたが，PC では施設間において反応性にバラツキがみられた。

図 1 LABScreen single IgG の蛍光値解析



HLA Class I コントロール血清



HLA Class II コントロール血清

2.8.　まとめ

FlowPRA では，陽性率（%）を改善することが重要であると思われた。

FlowPRA と LABScreen の single は，特異性を確認する検査であるため，判定保留という報告では正確な統計解析が困難である。今後結果報告の改善をお願いしたい。

3.　臓器移植関連　抗体部門（AbScreen，LAT）（佐藤　壮：札幌北楡病院）

ELISA 法はマイクロプレート上に固相化された HLA 抗原と被験血清を反応させて形成される抗原抗体複合体に標識抗体を結合させて発色させ，目視あるいはプレートリーダーで判定する方法である。

今回の参加施設は 3 施設で，LAT 法（One Lambda）が 2 施設，AbScreen 法（Biotest）が 1 施設であった。分野別の分類では LAT 法が臓器関連と臓器・輸血・造血関連各 1 施設（いずれも医療機関），AbScreen 法が臓器・造血関連（検査センター）であった。

結果は表 5 の通りで，いずれも Class I 抗体では SH2101，SH2102 は陽性判定となったが，SH2103，SH2104 は陰性であった。また，Class II 抗体を測定した AbScreen 法において SH2101 は陽性であった

表 5　LAT および AbScreen 法での結果

LAT法（21S22）

クラス I&II　陽性判定：目視

位置	A	B	C	D	No.	E	F	G	H
Control	1	1	1	1	1	1	8	8	8
Control	1	1	8	8	2	8	1	1	1
2101	8	8	4	4	3				
2102	8	8	1	1	4				
2103	1	1	1	1	5				
2104	1	1	1	1	6				

LAT法（21S30）

クラス I　陽性判定：目視

位置	A	B	C	D	No.	E	F	G	H
Control	1	1	1	1	1	1	8	8	8
Control	1	1	8	8	2	8	1	1	1
2101	8	8	1	1	3				
2102	8	8	1	1	4				
2103	1	1	1	1	5				
2104	1	1	1	1	6				

AbScreen法（21S31）

陽性判定：吸光光度計で測定しN.C.のOD値の平均×2以上

		N.C	P.C	2101	2102	2103	2104
HLA Class I	OD値	0.12	2.45	1.83	2.19	0.11	0.13
	判定			8	8	1	1
HLA Class II	OD値	0.17	1.8	0.95	0.1	0.09	0.08
	判定			8	1	1	1

がSH2103は陰性であった。

したがってClass I抗体に関してはLCT法やAHG-LCT法よりも，Class II抗体においてはFlow-PRA法やLABScreen法よりも感度が低い可能性が示唆された。

4. 臓器関連 クロスマッチ（山本　賢：国立循環器病センター）

4.1. 概要

今回，QCWSにおいて部門別解析の充実を踏まえ，クロスマッチを実施し各施設における検査の現状を把握し，今後QCWSに導入するための準備・模索の位置づけとして，任意参加として実施することになった。参加施設は臓器関連部門として3施設(医療機関，血液センター，試薬メーカー各1施設)が参加し，測定方法についてはAHG-LCT，LIFT，ICFAの3法であった。また，臓器関連部門の3施設以外で，輸血部門（＋造血部門）として参加した6施設(医療機関：1施設，血液センター：5施設）を追加し測定方法別に解析を行った。

4.2. 結果および考察

クロスマッチSample SH2101に含まれる抗体特異性をもとに，各施設で使用した生細胞が保有する抗原（A1，A2，A24，B44）についてクロスマッチ方法別に解析を行った。各施設におけるクロスマッチ結果については解析結果の詳細は，学会ホームページ「13回QCワークショップ報告集」の「②臓器関連・クロスマッチ」を参照されたい。

A1およびA24において，FlowPRA，LABScreenにおける蛍光強度より高力価の抗体であるため，AHG-LCT，ICFA，FCXMいずれの方法でも良好な結果が得られた。また，A2，B44についてはFCXM，LIFT（83%）に比べLCT，AHG-LCT，ICFAでは陽性率が50%以下と低く，低力価の抗体においては，方法により検出感度の差が認められた。

以上の結果より，クロスマッチはいずれの方法にせよ，FlowPRA，LABScreenなどのFCMを用いた蛍光ビーズ法よりも明らかにHLA抗体の検出率が低いこと，さらには施設ごとに用いている標識抗体，反応温度についても含め，今後十分に検討を行っていく必要があると思われる。

第13回 HLA-QCワークショップレポート
—部門別解析：造血部門—

加藤　道[1)]，杉本達哉[2)]

[1)]愛知県赤十字血液センター，[2)]東海大学医学部付属病院

1. 造血部門 DNAタイピング（加藤　道：愛知県赤十字血液センター）

1.1. はじめに

造血部門のDNAタイピングについては，参加23施設(医療機関13施設，血液センター3施設，検査センター4施設，試薬メーカー3施設)のデータについて，検査報告数の多いHLA-A, B, CおよびDRB1の正解率を中心に検討を行った。また，正解率については，総合判定にコンセンサスアリル（2桁レベルおよび4桁レベル）と同等の表記を含むものを正解とし算出した。更に造血部門については，「4桁でのアリル判定ができること」がもう一つのテーマであることから，総合判定とコンセンサスアリルとの4桁アリルの正解率を算出し検討を加えた。なお，不正解の詳細については，重複することから他部門を参照願いたい。

1.2. 解析内容

1) コンセンサスアリルとの正解率

施設及びローカス別正解率（施設別正解率，施設別不正解内訳）

検査法及びローカス別正解率（検査法別正解率，検査法別不正解内訳）

2) 4桁アリル正解率

現行の造血幹細胞移植は，造血幹細胞のソースによって，C-locusを照合する場合としない場合があるため，4桁アリルの正解率についてはHLA-A, B, DRとHLA-A, B, C, DRに分け算出した。なおHLA-A, B, C, DRの正解率はC-locus未実施を不正解として算出した。

施設別のHLA-A, B, DR及びHLA-A, B, C, DRの正解率

検査法別のHLA-A, B, DR及びHLA-A, B, C, DRの正解率

1.3. 結果及び考察

解析結果の詳細は，学会ホームページ「13回QCワークショップ報告集」の「造血部門　DNAタイピング」を参照されたい。

1) コンセンサスアリルとの正解率

施設別の正解率については，全施設90%以上の正解率であり良好な結果が得られた。また，特に検査センター，血液センターでは100%の正解率であった。

検査法別正解率については，SBT+Luminexが100%，Luminex単独使用が99.6%とLuminexをベースとした検査法の正解率が高く，SSP単独使用の正解率が84.1%と唯一90%を切っていた。SSPを実施している施設は全て医療機関であったため，医療機関の正解率が他施設と比較し若干低めであったが，今回のSSP実施施設の不正解は単純なミスが目立つことから，SSPの単独使用であっても，精度を上げることによって十分正解率を改善させることができると考えられた。

2) 4桁アリルの正解率

施設別の正解率については，血液センターがA, B, DR及びA, B, C, DRともに100%であった。また，検査センターでは，1施設がLuminex単独使用での表記を2桁にしており，100%の正解率にはならなかった。医療機関でA, B, DRとA, B, C, DRの正解率に差があるのは，医療機関のうち5施設がC-locusのタイピングを行っていないためであった。

検査法別の正解率については，SBT+LuminexがA, B, DR及びA, B, C, DRともに100%であった。Luminex単独使用では，2桁表記やCの未実施が正解率を下げており，不正解は表記ミスの1例のみであった。SSP+RELI及びSSP単独使用の正解率は0%であった。

今回の結果より，造血幹細胞移植における検査法としてLuminexがスタンダードになりうると思われた。また，造血部門のテーマである「4桁でのアリル判定ができること」の観点から，SSPの単独使用は，造血幹細胞移植の検査法として問題があると考えられた。今回もC-locus未実施が数施設あったが，造血幹細胞移植におけるC-locusの影響が明らかになりつつあることから，造血部門では今後C-locusのタイピングが必要になると思われる。

2. 造血部門抗体解析（杉本達哉：東海大学医学部付属病院）

2.1. はじめに

第13回QCWSでは，臓器移植，造血細胞及び輸血関連の3部門に区分けされQCの解析が実施された。今回，HLA抗体QCWSの提出サンプル（2101, 2102, 2103, 2104）について，造血細胞部門の抗体検査解析報告を行った。また，臍帯血移植時のHLA抗体検査の必要性を鑑みて，東海大学さい帯血バンクにおけるHLA抗体検査の利用を紹介したので報告する。解析結果等の報告内容の詳細は，学会ホームページ「13回QCワークショップ報告集」の「造血部門　抗体解析」を参照されたい。

2.2. 造血細胞部門におけるHLA抗体検査の解析

造血細胞部門として抗体検査に参加した施設は19施設であった。参加19施設の内訳は，病院群が9施設，検査センター群は10施設であった。HLA抗体検査の内容別参加数は，HLA-Class I参加が19施設，HLA-Class II参加は16施設であった。HLA抗体検査の検査方法は多岐（10検査方法）に渡っていた

が，FlowPRA（21%），LABScreen（33%），*WAK-Flow*（15%）が多くを占めていた。また，検査方法は病院群では1種類であったが，検査センター群では複数の検査方法を持っている施設（70%）が多く認められた。

QCWSの4種類のサンプルについてHLA-Class I抗体有無の回答率は2101，2102が100%，2103と2104はそれぞれ94.4%，66.7%であった。HLA-Class I抗体結果が一致しなかった内容は，陽性サンプルを陰性と報告（6施設）したものであった。

HLA-Class II抗体の有無の回答率は2101，2102が100%，2103と2104はそれぞれ87.5%，93.8%であった。HLA-Class II抗体結果が一致しなかった内容は，2103において陽性サンプルと陰性と報告した施設及び判定保留を1施設ずつ認めた。2104では判定保留を1施設認めた。各サンプルのHLA抗体の特異性の同定は施設間で若干のばらつきが認められた。

2.3. 造血細胞部門におけるHLA抗体検査のまとめ

HLA抗体検査有無の回答率は100%～66.7%であった。HLA抗体の有無は造血幹細胞移植を実施するためには，非常に重要なファクターとなる。特に今回のQCでは2104のhigh backgroundサンプルで陽性サンプルを陰性とした施設が散見された。抗体の存在の有無を的確に検査することは重要である。high backgroundを呈するサンプルでは，適切なサンプル処理を行い，検査を実施する必要がある。今回抗体の存在を検出できなかった施設は，今一度検査手順を見直し再考すれば，今後の改善につながると思われる。また，HLA抗体の特異性の同定は各施設で若干のばらつきを認めた。HLA抗体の交差反応性，HLA抗体検査におけるカットオフの設定や低力価抗体の存在などが特異性の同定にばらつきを発生させうる要因と考えられる。施設間別の特異性同定の精度向上も今後の課題と考えられた。

2.4. 東海大学さい帯血バンクにおけるHLA抗体検査の利用紹介

東海大学さい帯血バンクに臍帯血移植のコーディネートを依頼された場合，臍帯血のセグメントを利用して解凍検査が実施される。解凍検査では凍結臍帯血の品質確認のため，細胞数，細胞生存率，CD34陽性細胞数測定，colony assay及び臍帯血のHLA再確認検査が実施される。

患者検体からは，HLA確認検査及びHLA抗体検査が実施される。臍帯血及び患者検体からの検査情報は，毎週実施しているさい帯血バンクミーティングでスタッフにより確認される。確認内容は，臍帯血解凍後の生細胞数，CD34陽性細胞数，CFU-GM数を患者体重当たりの細胞数に換算して，選択臍帯血の適正確認を行っている。また，患者検体HLA抗体検査よりHLA抗体の有無を確認し，HLA抗体の存在を認めた場合は，該当臍帯血とのHLA反応性を確認している。

高梨らは臍帯血移植を受けた患者がHLA抗体を保有しているとき，そのHLA抗体が臍帯血のHLA特異性と一致するか否かでの移植成績について報告している。患者がHLA抗体を有しているが移植臍帯血のHLAと一致しない時の移植成績はHLA抗体を保有しない臍帯血移植患者と同等の移植成績である。しかしながら，患者保有HLA抗体が移植臍帯血のHLAと反応する組み合わせでは，移植成績が有意差をもって低下する。[1)]

我々の施設もこの報告に準じて臍帯血出庫の対応がなされている。患者保有HLA抗体が該当臍帯血に反応しない場合は，患者にHLA抗体が存在するが該当臍帯血との反応性を認めない旨を移植施設の担当医に伝達して臍帯血を出庫している。

患者保有HLA抗体が該当臍帯血に反応する場合は，患者保有HLA抗体が該当臍帯血と反応する旨を移植施設の担当医に伝達し，臍帯血の利用判断を委ねている。多くの場合は臍帯血の出庫を見合すことが多い。なお，当バンクで患者がHLA抗体を保有しており該当臍帯血との反応性を認める場合にバンク側の判断のみで出庫を停止することは行っていない。患者の中にはHLA抗体を保有しており該当臍帯血との反応が考えられる場合もやむを得ず移植を選択するケースも存在する可能性が考えられる。現段階ではその可能性を無くすことがようにとの配慮のためである。

今後の課題として，HLA抗体検査報告の力価の報

告が挙げられる。現状ではHLA抗体の力価報告が困難なため，統一された報告がなされていない。この点に関しては，今後検討が必要と考える。また，低力価と考えられるHLA抗体が存在した場合，該当臍帯血のHLAと反応が考えられるケースがある。この場合の臍帯血移植コーディネートをどのように進めていくかについても今後の課題として挙げられる。

参考文献

1. Minoko Takanashi, Koki Fujiwara, Hidenori Tanaka, et al: The impact of HLA antibodies on engraftment of unrelated cord blood transplants: TRANSFUSION, 48 791–792, 2008.

第13回 HLA-QCワークショップレポート —DNA結果表記について(新表記も含む)—

太田正穂

信州大学医学部法医学教室

日本組織適合性学会における認定制度委員会が主催するHLA-QCワークショップは13回となった。これまでの12回のワークショップでは，各施設から提出された検査表記について，検査結果の表記法についての問題点や疑問点などを検討し，報告してきた。HLA表記法は，HLAを利用する何れの人達にも，明確かつ正確に理解されるものでなければならない。そのため，日本組織適合性学会では標準化委員会を中心に，アリル表記法または血清対応型の表記法についての指針を示し，HLA検査結果の正確なアリル表記法を「検査結果(ワークシート)記載法と結果報告書表記法およびアンビギュイティ(ambiguity)の取扱い原則(2003年度版)」で提唱している(MHC vol 10(3), 160–162)。

これはWHO命名委員会報告(Nomenclature Committee for Factors of the HLA System)および1987年に最初に紹介された4桁でアリルを表記する方法に基づいて作成されており(Marsh SGE, et al; Tissue Antigens, 65: 301–369, 2005, Human Immunology, 66: 571–636, 2005, Immunogenetics, 32: 107–159, 2005)，我が国に適応したHLA表記法である。しかし，最近は世界各国からの新アリルの登録により，アミノ酸の違いを示す3〜4桁の数字が99を超えるallele family(HLA型)が幾つも生じ(A*02, A*24, B*07, B*15, B*35)，アリル表記法が複雑になってきた。この状況を解消するために，WHOのNomenclature Committee for Factors of the HLA Systemは2010年4月より新たな記述法を採用することを示した。我が国でも，日本組織適合性学会のHLA標準化委員会が，4月からの命名規則の変更に準じた表記法の改正を検討している。従って第13回QCワークショップは，従来の表記法を用いた最後の解析となった。

第13回QCワークショップでのDNAタイピング結果報告は，これまでとは様式が異なり，各先生方からそれぞれの部門(輸血部門，臓器移植部門および造血幹移植部門)における解析結果(正解率，表記法等)の報告がなされている。更に，各種DNA検査法(Luminex, SBT, SSO等)別の解析結果も報告されている。これらの詳細な内容は日本組織適合性学会ホームページ(http://square.umin.ac.jp/JSHI/)のQCWS欄に掲載されている。今回のQCワークショップにおけるDNAタイピング結果表記およびHLA型表記では，これまでのワークショップで報告されたもの

と同等の間違いが見られた。特に，データの転記ミス，反応パターンの読み違い，表記ミスなどの人為的な過誤については，表記法の知識以前の問題で，最新の注意と十分な確認が必要である。

本学会の認定制度委員会は，4月から導入される新表記法について学会ホームページに，ブリーフレポート(HLAアリルの命名規則の変更について)を掲載しているので参照して頂きたい。また，新旧アリルの変換はウエッブサイトhttp://hla.alleles.org/data/txt/Nomenclature_2009.txtで容易に確認できる。

第13回 HLA-QCワークショップレポート —検査法別解析：FCMによる抗体検査法の解析：FlowPRA法の検査状況の解析—

佐藤　壯

札幌北楡病院

1. はじめに

昨年に続いてFlowPRA解析を担当させていただいた。今回から結果報告のエクセルファイルの他にFCSファイル(LABScreen法におけるCSVファイルと同様のファイル)の提出をお願いした。昨年はデータ提出後にあらためてFCSファイルの提供をお願いし，ベックマン・コールター社(以下BC)を使用している施設のFCSファイルについてはベクトン・ディッキンソン社(以下BD)のfile converterで変換して解析した。ただ，file converterがFCS2.0にまでしか対応していないためFCS3.0モードでデータファイルを作成するFC500(BC)については別途解析せざるをえなかったため統一的な解析とは言えなかった。

今年はFC500と同様にFCS3.0モードのFACSCanto(BD)で測定する施設も参加したため，すべてのFCSファイルを解析できるソフトウェアFlowJo(Tree Star, USA)を用いて解析を行った。

解析結果については，学会ホームページに掲載されている「13回QCワークショップ報告集」の「FCM抗体検査法の解析　FlowPRA法の検査状況の解析」(以下，HP掲載結果)を参照されたい。

2. 参加施設と測定項目・機器

参加施設を医療機関，血液センター，検査センターに大別して測定項目毎に表示したのが，HP掲載結果の2ページである。合計20施設で，医療機関が11施設，血液センター7施設，検査センター2施設であった。

Screening Test(以下SC)は全施設が測定し，このうちIgM抗体を測定したのは6施設，Single Antigen(以下SA)を測定したのは8施設であった。

測定機器はBDが12施設，BCが8施設だった。

3. 測定結果

3.1. SC

今回の配布検体は4種類で，IgG class I抗体はすべての検体，IgG class II抗体はSH2101，SH2103で陽性だった。陽性検体を8と判定，陰性検体を1と判定したものを一致と見なして集計したのがHP掲載結果5, 6ページである(histogramは4, 11, 15–19ページ)。結果が一致していなかったのはIgG class I抗体のSH2104のみで他はすべて一致し(21S08施設がSCのclass II抗体をIgG+IgMで測定し，SH2102を陽性率71.63%・判定4としているが解析からは除外している)，昨年と比較しても良好な結果であっ

た。また取り込みevent数も多くの施設がclass別に10,000近い数を取り込んでいた。ただ，陽性率に関しては施設によりかなりばらつきが見られた。IgM抗体に関しては，結果のみを掲載した（HP掲載結果7ページとhistogram 9ページ）。

3.2. SA

測定した9施設中，5施設がG1～4までで G5以降も測定したのは4施設であった（HP掲載結果，21～24ページ，plotは26, 28～31ページ）。PE蛍光の強いビーズが右に非特異的にシフトしたり，PE蛍光の最も弱いビーズが陽性となった際に上にずれたり下にずれてplot上から消失する場合があるなど，Compensation不良のプロットが数多く認められ，残念ながら昨年と比較して改善は認められなかった。

4. 考察

SH2104検体のIgG class I抗体に関して，4と判定したのが5施設，1と判定したのが4施設であった。このうちはっきりとしたセカンドピークを認めなかったのが3施設あり，これらの施設に再検を依頼したところ2施設が再検を行った（HP掲載結果12ページ）。結果は明らかなセカンドピークが認められ，さらにSH2103も再検した1施設の結果ではhistogramに大きな違いが認められた。2施設に確認したところ最初に測定した際に使用した試薬は解凍後かなり時間が経過していることが判明した。One Lambdaが添付している取扱説明書には試薬の有効期限は解凍後3ヶ月と明記されている。

また，同一検体での陽性率に大きな差が認められている（HP掲載結果，13ページ）し，histogramにも大きな違いが認められている。あるいはこれらの現象にも試薬の劣化が関係している可能性がある。次回以降のQCWSにおいては試薬のロット番号の他に，試薬を解凍してからどれくらい経過しているかの記載も必要であると考えられる。

次に，今回の解析で気づいたのは，class IIビーズのhistogramのばらつきである。これはロット変更によりclass IIビーズのPE蛍光強度がおそらく弱くなり，これがFITCへの洩れ込みにも影響したのか左側（蛍光強度が弱い方向）にシフトしている施設がいくつか認められた（HP掲載結果，20ページ）。蛍光強度が弱いとどうしても陰性ピークと陽性ピークの差が小さくなり判定しづらくなるので，各施設で適宜Comp fileの更新を行っていただきたい。

さらに，これは今回に限ったことではないが，スコアに4＝判定保留という選択肢がある。判定する側にとっては便利な選択肢であるかもしれないが，結果を受け取る立場で考えてみれば，これほど困惑する報告はない。ましてやSAで特異性の有無を検討してもらった結果が「判定保留」では臨床サイドはお手上げである。来年からはこの選択肢は廃止する方向で考えていただきたい。

最後になるが，今年もSH2102検体のA66抗体に関してFlowPRAとLABScreenで結果が解離する現象が認められた。これはFlowPRAにはA*6601抗原だけが，LABScreenにはA*6601とA*6602の2抗原が含まれていることによる相違である。昨年のA24に関しても同様の現象が認められており，抗原をアサインするレベルも4桁レベルに移行しつつあることを考慮すると抗体レベルでも4桁レベルで議論する方向で進める必要があるものと考えられる。

5. まとめ

今回の結果は，昨年と比較してもHigh Backgroundの検体が全く問題にならなかったように，全体的に見て大きなレベルの向上が認められた。

昨年One Lambda主催のHistocompatibility Workshopに参加したが，アメリカにおいても各施設で非特異反応をどう抑えるかメーカーに頼らずに各々模索しているのが印象的であった（Absorb Outを使用しているという施設はまったくなかった）。臨床に関わる各施設が参加するQCWSの役割は今後ともますます重要であると改めて再認識した。

また，試薬の劣化に関しては，今回参加された一部の施設の協力を得てQCWS配布検体を使用した試薬劣化試験を行っている。結果については何らかの形で報告させていただければと考えている。

第13回 HLA-QCワークショップレポート —検査法別解析：FCMによる抗体検査法の解析：LIFT法およびFCXMの検査状況の解析—

宮崎 孔

北海道赤十字血液センター

1. はじめに

LIFT法の参加施設は計5施設，抗体検査は2施設（21S08, 21S32），FCXMは4施設（21S02, 21S20, 21S26, 21S32）の参加となった。

5施設のうち，IgM抗体を単独で測定している施設が1カ所，HLA class-II抗体を測定してる施設も1カ所しか無かったため，ここではclass-IのIgG抗体のみを解析対象とした。

各施設から提出されたLIFT法の結果（score）について，本ワークショップでLABScreen Single Antigen（LABSA）を実施した15施設のrawdataの平均値を基準として解析した。また，解析結果については，学会ホームページ「13回QCワークショップ報告集」の「FCM抗体検査法の解析　LIFT法およびFCXMの検査状況の解析」（HP掲載結果）を参照されたい。

2. HLA抗体検査

2施設でのHLA抗体検査の結果について解析した（HP掲載結果：図1～4）。2施設ともAHG-LCTで検出でき，LABSAのrawdataが10,000以上の反応性の強いHLA-A, -Bに対する抗体，SH2101：抗A24，SH2102：抗B7＋B13＋B27＋B48＋B60＋B61は全て検出できていた。しかし，SH2103の抗Cw1はAHG-LCTでも検出でき，LABSAのrawdataも10,000以上であったが，LIFT法では1施設のみしか検出できていなかった。LABSAのrawdataが3,000～5,000程度のHLA抗体の反応はLIFT法では多くが特異性が検出できていたが，一部検出できないものもあった。LABSAのrawdataが1,000以下のものはLIFT法では概ね陰性を示した。SH2104はLABSAでrawdataが3,000前後のHLA抗体の反応性が検出されたが，LIFTではHLA抗体は検出されなかった。

LIFTのHLA抗体の検出感度はLABScreenやFlowPRAよりも低いと考えられるが，これらの高感度な検査法でのみ検出されるHLA抗体の臨床的な意義を検証することは今後の重要な課題であると言える。LIFTとLABScreen・FlowPRAの結果が乖離する原因として，検出感度の他に抗体の検出に用いるHLA抗原の性状の違いも考えられる。LIFTが生体由来の試料（リンパ球）のHLA抗原を用いているのに対し，LABScreen・FlowPRAでは精製HLA抗原を使用しており，この両者の抗原に対する反応性の違いも乖離の一因になっている可能性が考えられる。本ワークショップから配布された検体SH2104もLABSAではHLA抗体の特異性が検出されたが，LIFTなどの生体由来の試料を用いた方法では検出できなかった。このような検体ではLABSAを用いたリンパ球・血小板によるHLA抗体の吸収試験も有効な確認方法の1つであると考える。

また，LIFTのHLA抗体検出能は使用するリンパ球のHLA抗原にも影響を受けるため，1つのHLA抗原につき複数のパネルリンパ球を使用するのが望ましい。本ワークショップの結果でも1つのパネルのみで抗体の特異性を決めてしまったために誤判定となった例があり，このような場合は複数のパネルで特異性を確認することにより正しく判定できた可能性がある。

3. FCXM

4施設での検体SH2101を用いたクロスマッチの結果は，LABSAでのHLA抗体の特異性から予測される結果（抗A24＋A2＋A1＋B44）とほぼ一致した。しかし，一部は判定保留，あるいは偽陰性と考えられる結果となっていた（HP掲載結果：図5）。この原因の一つとして各施設でのLIFTのcutoffの設定が異なっており（HP掲載結果：図6），判定基準の設定が適切でない可能性も考えられる。我々の施設ではサンプルの平均蛍光強度を陰性コントロールの平均蛍光強度で割った値（S/N）が2.0以上を陽性と判定しており，仮にこの条件で全施設の結果を判定すると判定保留・偽陰性のほとんどが陽性と判定された。このcutoffを適用するためにはそれぞれのLIFTのプロトコールでの十分な特異性の検証が必要となるが，cutoffを適切に設定することは非常に重要であり，正しい判定を行うためには必要不可欠である。LIFTの普及には標準プロトコールを作成し，それに準じた検査を行うことによって検査法を標準化する必要があるかも知れない。

また，FCXMでは検出感度が高くなる分，非特異反応も増加する。クロスマッチ検査法としては特異性が重要となるため，偽陽性を極力少なくするプロトコールが望ましい。偽陽性を少なくすると検出感度が犠牲になるが，これは事前のHLA抗体スクリーニングで補うことも可能である。

今回のQCWSではLIFTの参加施設が少なかったが，LIFT（FCXM）は移植検査で必要となる直接クロスマッチ法の中でも最も簡便で感度の高い方法と考えられるため，今後はより多くの施設の参加が期待される。

第13回 HLA-QCワークショップレポート —検査法別解析：Luminexによる抗体検査：LABScreenによる抗体検査—

高　陽淑

大阪府赤十字血液センター

1. 解析の内容

LABScreenに参加した17施設から提出されたCSVデータを基に，サンプルの蛍光値（Trimmed mean）のバラツキについて試薬の特徴をふまえて比較検討した。本稿では解析のポイントについて述べるので詳細なデータに関しては，学会ホームページ「13回QCワークショップ報告集」の「Luminex抗体検査　LABScreenによる抗体検査」（以下，HP掲載結果）を参照されたい。

2. LABScreen Mixedについて

2.1. 使用目的と判定方法：

Mixedは，17施設中7施設が実施。MixedはHLA class I, II抗体の有無を決定するものであり，殆どの施設ではHLA Visual等の解析ソフトから得るNBG Ratioがcut off以上であれば陽性と判定している。

2.2. 検討結果

全ビーズが高い蛍光値を示した1施設を除いて，ほぼ同じ反応パターンを示していた（HP掲載結果，スライドNo. 4〜11）。但し，高い蛍光値となった原因は特定できなかった。

2.3. まとめ

NBG Ratio は陰性コントロールビーズおよび陰性対象血清の蛍光値に左右されることからcut off Ratioの設定は慎重に行うべきである。また場合によっては判定の際に任意のビーズの蛍光値も確認する必要がある（HP掲載結果，スライドNo. 12）。

3. LABScreen PRA について

3.1. 使用目的と判定方法

PRA は，17 施設中 3 施設が実施。使用目的はMixed に準ずると思われるが，結果によっては一部の特異性の同定も可能である。判定には採用する解析ソフトと実施者の判断が反映される。

3.2. 検討結果

3 施設が測定したPRA I の反応パターンは 4 件検体ともに一致していたが，蛍光値の差をMax 値に対する割合に変換して各ビーズ間で比較したところ一定の幅が存在した。その幅はSH2101 が50% 前後と最も大きく，SH2102, 2103 は 25% 以下であった（HP掲載結果，スライドNo. 17〜23）。しかしPRA II では1施設の反応パターンが他と違いさらに，ビーズ毎の蛍光値幅にもバラツキを認めた。これは，この施設のみがLot. 12 を用いておりさらに全検体についてAdsorb out処理を実施していた事に起因しているかどうかは究明できなかった（HP掲載結果，スライドNo. 24〜28）。

3.3. まとめ

第11回QCWS ではPRA 実施施設は参加 11 施設中 7 施設と，多数であったが回を重ねる毎に減少している。その原因としては，Mixed の改良が進んで，日常業務に採用する施設が増加してきた事，特異性の同定が可能であるsingle antigen の使用頻度が全般的に増加している事が挙げられる。しかし反応性のバラツキも少なく，何よりも生体細胞での抗原の状態に最も近いPRA の測定意義を再考するべきであると考える。

4. LABScreen single antigen について

4.1. 使用目的と判定方法

single antigen は，17 施設中 15 施設が実施。使用目的は抗体特異性の同定であり，判定には採用する解析ソフトと実施者の判断が反映される。

4.2. 検討結果

反応性が極端に低かった 1 施設を除く 14 施設の結果を解析した。

使用Lot が施設によって1〜5 と違っていたが，陰性対象血清における各ビーズの反応パターンは 1 施設で 1 ビーズが突出した事を除けば概ね同様であった（HP掲載結果，スライドNo. 32〜36）。SH2101〜2104 の 4 検体において，ビーズ毎の蛍光値をLot毎に色分けし，14 施設での中央値を加えて比較したもの，さらにそれをワークショップの基準でスコアに換算して比較したものをグラフに表した（HP掲載結果，スライドNo. 37〜45, No. 48〜51）。その結果中央値が4,000 以上となるような高い値の領域ではスコアもその後の判定も一致するが，1,000 以下となるような低い領域ではスコアでのバラツキも顕著になり，最終的には抗原別判定の不一致に繋がると考えられる。

次に Adsorb out 処理の効果について述べる。SH2104 についてsingle antigen を実施した 13 施設中，6 施設がAdsorb out処理を実施していた。このうちMixed, PRA など他の試薬でバックグランドが高い事を確認したのは 3 施設，全検体について無条件に処理をしていたのは 2 施設であり，single antigen でバックグランドが高い事を確認していたのは1施設のみであった（HP掲載結果，スライドNo. 47）。

また，Adsorb out処理を実施した 6 施設と未実施の 7 施設の蛍光値に大差は認めず，判定結果も全施設一致していた（HP掲載結果，スライドNo. 46）。このことからLABScreen においてsingle antigen はそれ以外の試薬とは異なりバックグランドの影響を受けにくい可能性が示唆された。また，SH2104 はその反応性から保有する抗体がHLA かnon-HLA であるか判別する必要性がある（HP スライドNo. 46）。

4.3. まとめ

HLA 抗体特異性同定法として有用であり，多数の施設が使用するsingle antigen ではあるが，その測定結果には大きなバラツキがあった。これは試薬側（使

用 Lot など）と施設側（手技や測定環境・機器など）の両面に起因すると考えられる。また，コントロールおよび任意のビーズから算出されるスコアは，蛍光値の強さによってはバラツキの影響を大きく受けることから，判定に際しては解析ソフトで求められるスコアだけに頼らず，蛍光値の確認，さらには抗体特異性のクレッグなども考慮した判断が求められる。

5. 今後の課題

Adsorb out の必要性や，non-HLA との判別法についての検討，さらには，バラツキを含んだデータを正確に判断するための新たな解析方法を模索することなどが挙げられる。

第 13 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析：Luminex による抗体検査：*WAKFlow* HLA 抗体および ICFA 法による抗体検査—

関根みゆき

東京都赤十字血液センター

1. *WAKFlow* HLA 抗体クラス I & II (MR)

1.1. はじめに

今回のワークショップにおいて *WAKFlow* HLA 抗体の参加施設は，クラス I が 9 施設，クラス II が 8 施設であった。そのうち市販化された試薬（Lot.J0A）を使用していたのは 6 施設であり，その他の 3 施設では市販前の試薬を使用していた。非特異的な反応を除去する *WAKFlow* HLA 抗体専用の血清処理試薬は，5 施設がすべてのサンプル，3 施設が一部のサンプルについて使用し，1 施設は未使用であった。

1.2. 結果と考察

解析結果の詳細については，学会ホームページ「13 回 QC ワークショップ報告集」の「Luminex 抗体検査 *WAKFlow* HLA 抗体・ICFA 法による抗体検査」を参照されたい。

1) 各ビーズの反応性の比較

陰性対照血清においては，血清処理試薬の使用の有無に関わらず，陽性コントロールビーズの測定値は一定していた。血清処理試薬の使用で，血清のバックグラウンドが抑えられ，バックグラウンドビーズおよび各 HLA ビーズの測定値が明瞭になった。

SH2102 を例に，各ビーズの反応性の比較検討を行った。各 HLA ビーズの Median 値について，血清処理試薬を使用した 8 施設のデータを用いて箱髭図で比較を行った。施設 26 と施設 32 では，いくつかのビーズにばらつきが確認された。操作性の問題および使用していた試薬が製品化前の試薬であったことが原因と考えられた。

2) 各施設間の判定で相違が生じた場合およびビーズの反応性に問題が生じていた場合の原因追求について

① *WAKFlow* HLA 抗体クラス I (MR)

SH2101：すべての施設で A24 抗原に対する抗体特異性が検出されていた。A2 抗原に対する特異性判定は各施設で相違が認められた。A2 抗原を保有するビーズ測定値の解析では，施設間差およびアリルによる反応の違いは確認できなかった。

カットオフ値に着目すると，解析ソフトによるデフォルト値，各施設設定値いずれも，A2 抗原を保有するビーズ測定値は，陰性，陽性双方の領域に存在していた。このことが A2 抗原に対する特異性判定

に相違を生じさせた原因であると考えられた。各パネルの反応パターン，Median 値，Index 値から最適なカットオフ値を設定し，弱陽性反応を示すパネルや判定に矛盾が生じたパネルを考慮した上で，許容抗原を決めることが重要である。

SH2102：血清処理試薬が有効なサンプルであった。血清処理試薬の使用については，測定前にすべてのサンプルについて使用するか，測定結果から必要なサンプルについて使用するかは検討する必要がある。また，血清処理試薬を必要とするサンプルを選択する場合，バックグラウンドビーズ測定値の基準について検討する必要がある。

SH2103：Cw1 に対する弱い反応が確認されたが，Cw1 の抗体特異性と決定できる反応ではなかった。他の検査法では Cw1 に対する抗体特異性が検出されていることから，C ローカスに対する抗体の検出能力は不十分であった。

SH2104：Lot.J0A を使用した施設で Pc118 (A11/$^{-}$ B52/55 Cw1/12) のビーズのみ反応が確認された。添付の二次抗体 (IgG＋IgM)，IgG，IgM の 3 種類の二次抗体を用いて検討を実施したところ，IgM の反応であることが明らかになった。他の検査法で IgM クラスの抗体特異性は検出されていないことより，Lot. J0A における IgM クラスの非特異的な反応であることが推測された。

② *WAKFlow* HLA 抗体クラス II (MR)

SH2101：広範囲の抗体特異性を保有するサンプルであり，特異性を同定することはできなかった。*WAK-Flow* HLA 抗体 (MR) は，許容抗原の決定を目的とした試薬であるため，広範囲の抗体を保有する検体では，特異性同定ができないことがある。

SH2103：Pd12 (DR12,$^{-}$ DQ7/9 DPB1*0501/$^{-}$) のビーズにのみ反応が確認された。他の検査法で検出された DR12 および DQ7 を保有するビーズの反応性を再確認したが，Pd12 以外のビーズに反応は認められなかった。Pd12 が DR12 のホモであることから，Pd12 のビーズだけ感度良く反応したと推測された。

2. ICFA 法

2.1. はじめに

ICFA 法の抗体検査としての参加施設は 2 施設であった。2 施設においても，他の検査法の確認検査を目的として選択したパネルを用いたデータ提出であった。参加施設が少なく，対象データが少ないことから，SH2101 については交差試験として提出されたデータも解析に使用し，他の検査法の結果と比較検討を実施した。

2.2. 結果と考察

解析結果の詳細については，学会ホームページ「13 回 QC ワークショップ報告集」の「Luminex 抗体検査 *WAKFlow* HLA 抗体・ICFA 法による抗体検査」を参照されたい。

SH2101：他の検査法と同様，A24 抗原に対する抗体特異性を検出していた。他の生体材料を使用した検査法 (AHG-LCT 法の κ 鎖，LIFT 法) で検出されていた A2 抗原に対する反応は，ICFA 法では確認されなかった。AHG-LCT 法および LIFT 法が細胞上に存在する抗原に対しての反応を検出する方法であるのに対して，ICFA 法は HLA 分子に特異的に結合するモノクローナル抗体を用いた検出系であることが，相違を生じさせた原因と推測された。B44 抗原においては，他の生体材料を使用した検査法では陰性と判定され，ICFA 法では一部に反応が認められた。前述の検出系の違いや，操作技術上に要因があると考えられた。今後，多数施設が参加し，施設間差の検討および Raw data による詳細な解析が行えることが期待される。

SH2102：他の検査法と同様に B7 および B40 に対する抗体を検出していた。

SH2103：Cw1 および Cw14 に対する抗体を検出していた。ICFA 法で C ローカスの抗体は，A ローカスおよび B ローカスの抗体と同じように検出が可能であった。

SH2104：精製抗原を使用した検査法で検出する，いくつかの抗原に対する反応は，ICFA 法では確認されなかった。ICFA 法は生体材料を使用した検査法であり，精製抗原試薬で検出した反応と比較すると生体内により近い反応を示すと考えられる。

第13回 HLA-QCワークショップレポート —検査法別解析：DNAタイピング：SSO法，SSP法—

橋口裕樹

福岡赤十字病院　検査部HLA

1. SSO法

1.1. 参加施設

タイピング部門参加58施設中，22施設（38%）がSSO法を使用していた。内訳は表1の通りである。その殆どがDynal　RELIであり，湧永製薬MPH，INNOGENETICS INNO-LiPAが各1施設ずつであった。使用キット数ではRELIの単独使用が14施設と一番多く，SSO+SSPとの併用が5施設，SSO+SSP+RFLPの3法を使用した施設は1施設であった。

今回，Dynal　RELIを中心として解析を行い，参加施設が少なかったMPH，INNO-LiPAの生データの解析は省略し，HLA型判定のみ解析対象とした（表2）。参加施設の内訳は臓器移植18施設，造血細胞6施設，輸血関連5施設，その他1施設であった。（重複あり）

1.2. キット構成

Dynal　RELI　HLA-Aでは48probe kitの使用が18施設，43probe kitの使用が2施設であった。Lot数は合わせて9種類であった。HLA-Bについては全施設が61probe kitを使用しLot数は，11種類であった。HLA-Cwについては全5施設が37probe kitを使用しLot数は，4種類であった。HLA-DRについては54probe kitの使用が19施設，60probe kitの使用が1施設であった。Lot数は，13種類であった。またH2101，H2102の検体については DR3/11/13/14プライマーを追加的に使用した施設もあった。HLA-DQについては全2施設が41probe kitを使用しLot数は，2種類であった。各施設の多くはLotの異なるキットを使用している状況であった。比較的，短期間でLot変更が行われるRELIは，各施設において解析ソフトのヴァージョンアップ，Lot変

表1　使用キット及び方法数

メーカー名	キット名	施設数			
		1法	2法	3法	Total
Dynal	RELI	14	5	1	20
湧永製薬	MPH	1	0	0	1
INNOGENETICS	INNO-LiPA	1	0	0	1
Total		16	5	1	22

表2　参加数

HLA-A	HLA-B	HLA-Cw	HLA-DRB1	HLA-DRB345	HLA-DQB1
22/22	22/22	7/22	22/22	15/22	2/22

更など管理を確実に行って頂きたい。また，キット添付書類に False positive, False negative が発生しやすい probe 情報等が掲載されてあるので使用しているキットの特徴を確認しておく必要があると思われる。また，施設によっては期限切れの試薬を使用している施設も見受けられた。

1.3. 生データ

入力ミスと思われるもの，発色の弱い“2”, False positive, False negative が考えられるものについては，セル背景を黄色にして表示した。各施設にて再度，確認をお願いしたい。またバンドがみられない probe に“1”を入力せず，空欄のまま報告した施設があった。

各座を確認すると HLA-A は reference probe #21 で 2〜8 と発色にばらつきが認められた。HLA-B は reference probe #29, #61 で 2〜6 と発色にばらつきが認め，発色が弱い傾向にあった。HLA-Cw は H2104 検体のみで probe #21, #30 の発色が弱く False negative となり，ミスアサインの原因となった。HLA-DRB1 は，H2103 の検体では 12thQCWS でも指摘があった probe #30 の発色が弱い傾向が認め，改善していないと思われる。DR4 を判定する場合（probe #4, #42 が陽性）には probe #30 の判定には引き続き注意が必要である。

2. SSP 法

2.1. 参加施設

HLA タイピング部門参加58施設中，18施設(31%)が SSP 法を使用していた。(表 3) その殆どが One Lambda 社 Micro SSP であり，invitrogen UniTray を使用した施設が 1 施設であった。ジェノサーチサポート SSP については追加確認での使用だった。SSP 法の使用目的及びキット種類は表 4, 5 に記す。今回，One Lambda Micro SSP JPN, ABDR, SSP1L, SSP2L を中心に生データの解析を行った。他については，HLA 型判定のみ解析対象とした。参加施設の内訳は臓器移植 14 施設，造血細胞 5 施設，輸血関連 9 施設，その他 1 施設であった。(重複あり)

2.2. 生データ

参加数の多い JPN, ABDR, 1L2L のみ生データの解析を行った。試薬 Lot は異なるが，生データを比較すると，False positive, False negative と思われる反応が散見している。これが原因で正解アリルを含まないアリル表記，HLA 型の判定ミス，判定保留になった施設があった。また，生データは問題ないのに，解析レポートからの転記ミスも多く見受けられた。各施設にて，今一度確認して頂きたい。個別にみると H2101 B*5101, H2104 A*0302, H2104 B*1302 の正解アリル表記が出来ていない施設が多く見受けられた。H2101 B*5101 の原因は SSP-ABDR キットでは 4G の False negative が，SSP-1B では 1F の False negative が原因と考えられる。H2104 A*0302 ABDR キットは 1D の False negative と解析レポートからの表記ミスが考えられた。H2104 B*1302 (JPN) も解析レポートからの表記ミスが考えられた。また SSP では，H2101 A*2603 のように解析レポートを確認すると，A*25 等も否定できない事が判明する。この点も結果に反映させるか，コメント欄に書く必要があると考えられる。

表 3 使用キット及び方法数

試薬 Kit	施設数
Micro SSP	10
Micro SSP + SSO (Dynal RELI)	5
Micro SSP + SSO (LAB Type)	1
Micro SSP + SSO(Dynal RELI) + RFLP(自家製)	1
Micro SSP + UniTray SSP+ SSO(LAB Type)	1

表4 使用目的

目的	施設数
SSP 法を主なタイピング法としてアリル判定に使用	10
SSP 法、SSO 法の両方をアリル判定に使用	4
SSO 法を主なタイピング法として、SSP 法を補助としてアリル判定に使用	4

表5 One Lambda Micro SSP キット（重複使用あり）

製品名	商品コード	Lot No,	施設数
マイクロ SSP ABC/DRDQ	SSP JPN	#003, #004	5
マイクロ SSP AB/DR	SSP ABDR	#006, #007	4
マイクロ SSP クラスⅠ Generic Typing Kit	SSP 1L	#006, #007	4
マイクロ SSP クラスⅡ Generic Typing Kit	SSP 2L	#006	4
マイクロ SSP Allele Specific xxxxx	SSP1-xx, SSP2-xx		4
マイクロ SSP HLA x Typing Kit	SSP xxx		2
マイクロ SSP Seramates-B15	SSPSB15	#1	1

3. 報告書記入

以前より指摘のあったアリル表記等の不備は今回も見受けられた。未だ記載ルールが浸透していないと思われる。正解アリルの表記が無いもの，記載不備，解析ソフトからの転記ミスと思われるものが散見された。

4. まとめ

今回，解析を行い，結果を誤る3つの要因があると考えられた。

1. 試薬自体の問題や，誤った設定，操作方法により false positive，false negative が起こる。
2. 試薬の反応には問題は無いが，検査結果記載法，結果表記法，アンビギュイテイに問題。
3. 試薬の反応には問題は無いが，解析ソフトからの結果解釈に問題があり判定ミスをしている。

ミスアサインをした施設については，各施設において何処に問題があったかを再度，見直し解決して頂きたいと考える。

第13回 HLA-QCワークショップレポート —検査法別解析：DNAタイピング：Luminex（SSO）法—

大沼 豪

NPO法人 HLA研究所

1. はじめに

今回のリポートは過去3年間の比較を中心にまとめた。ワークショップ参加者（施設）が技術の向上と，その持続を評価するための参考資料と，タイピングキットの継続的な品質の評価の参考資料になることを目的とした。

・QC用検体数：4：昨年と検体は異なるが，コンセプトは同様。
・評価方法：昨年と同様（PN値比較/PCR精度比較）。
・評価対象：HLA-A, B, C, DRB1の4ローカス。DQB1，DPB1はデータ提出数が少なかったため除外した。

なお，今回の施設別・キット別の評価結果は，学会ホームページ「13回QCワークショップ報告集」の「DNAタイピング Luminex（SSO）法について」を参照されたい。

2. 参加施設と使用タイピングキットについて

・QCWS参加58施設中24施設からデータの提出があった。
・使用されたタイピングキットメーカーは3社(●▲■)。
・過去3年間におけるキットの使用施設数に偏りはなし。

3. 施設別評価

表1–1にHLA class I，表1–2にHLA class II，表1–3にHLA class I & IIの総合評価を示す。今年度の最優秀検査施設はD050であった。

4. キット別評価

表1–4にキットの総合評価を示す。今年度の最優秀キットは▲であった。以下キットごとにP/N値，PCR精度について記す。なお，各図の縦軸は得点（5点満点），横軸は年度を示す。

4.1. キット●について

1） P/N値比較：図1–1に推移を示す。

今年度，成績が向上したlocusはA, DRB1であるが，Bは昨年より悪化し，C座は横ばいの結果であった。各locus間においてばらつき（精度の差異）が顕著にみられた。

2） PCR精度比較：図1–2に推移を示す。

PN値と同様，locus間にばらつきがみられた。

4.2. キット▲について

1） P/N値比較：図2–1に推移を示す。

各locusの得点は中程度であるが，各locus間の精度にばらつきはみられず，バランスのとれたキットであった。A, B, Cは昨年より向上したが，DRB1は悪化した。キットの特性と推察される。

2） PCR精度比較：図2–2に推移を示す。

P/N値と同様，locus間のばらつきはなく，バランスのよいキットであった。全体的に昨年度よりも得点が上昇していたが，P/N値と同様，4 locus中DRB1が低い成績であった。

4.3. キット■について

1） P/N値比較：図3–1に推移を示す。

HLA-A, B, Cは昨年度よりも悪化したがHLA-DRB1は上昇した。遺伝子座の中でDRB1が一番良

い成績であった。各 locus 間でのばらつき（精度の差異）が顕著にみられた。

2) PCR 精度比較：図 3–2 に推移を示す。

DRB1 が一番良く，3 年連続で上昇。3 キット中で最高の成績を収めた。B は昨年より向上したが，他の 2 locus は悪化した。

5. 過去 3 年間における全施設得点推移

2007 年，2008 年，2009 年における全施設の成績を比較した（図 4 参照）。平均点が毎年 5 点ずつ上昇していることから，各施設の検査精度は着実に向上していることがわかる。

6. 過去 3 年間におけるキット精度比較

2007 年（上段），2008 年（中段），2009 年（下段）におけるキット精度を比較した（図 5 参照）。

左側は class-I，右側は class-II，横軸は P/N 比，縦軸は PCR 精度の得点を示す。両項目ともに得点が良い場合，A エリアにプロットされるが，class I ではキット▲に，class II ではキット■に年々精度の向上がみられた。

7. まとめ

- 全施設は年度ごとに着実な typing 精度の向上がみられ，今後もその継続が望まれる。
- タイピングキットはローカス別に精度差がみられ，かつメーカーの格差も認められた。均一な精度を示すキットへの改良が望まれる。

第 13 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析：DNA タイピング：SBT 法—

吉川枝里

東海大学医学部

1. 概況

SBT 法の参加施設は全 9 施設で，昨年より 1 施設減少した（表 2）。SBT のみの施設が 2 施設で，他 7 施設は SBT の他に SSO や SSP も行い 2 法以上を併用していた（表 1）。使用されたキットは，8 施設が AlleleSEQR（abbott），1 施設が SBTexcellerator (QIAGEN) で，自家製は 1 施設であった（表 3）。

2. 解析結果と考察（表 4）

HLA-C, DQB1, DPB1 では正解率が 100% であったが，A では 97.2%，B では 86.1% で，DRB1 では 78.1% であった（表 5）。

今回，検体 H2101 の HLA-A で 1 施設が増幅不良のため検査不能となっていた。セルライン由来の DNA は増幅不良を起こす場合があるため，それが原因ではないかと考えられる。同一検体の HLA-B は，Abbott および QIAGEN の両キットともに，2 桁さえ決まらないアンビギュイティーとなるが（B*3501//$^{+}$, B*5101//$^{+}$），9 施設中 5 施設が表記ミスにより不正解となった。原因を調査した結果，2 桁レベルで区別出来ない場合の表記法が分からなかった施設，2 桁で区別出来ないことに気付かなかった施設などがあった。また，1 施設で検体 H2102, H2103, H2104 の HLA-DRB1 で表記ミスが認められた。H2102 では，DRB1*1401/54 が DRB1*140101/54 と誤表記された。おそらく DRB1*140101 と DRB1*1454 のアンビギュイティーを示していると考えられるが，4 桁と 6 桁が混在する場合は，全て 4 桁に合わせて表

表1 参加施設および方法（9施設）

施設コード	ClassI			ClassII		
	A	B	C	DRB1	DQB1	DPB1
21D01	SBT+SSO	SBT+SSO	SBT+SSO			
21D02	SBT+SSO	SBT+SSO	SBT+SSO	SBT+SSO		
21D08	SBT+SSO	SBT+SSO		SBT+SSO		
21D09	SBT+SSO	SBT+SSO		SBT+SSO		
21D18	SBT	SBT	SBT	SBT		
21D25	SBT+SSO	SBT+SSO	SBT	SBT+SSO	SBT	SBT
21D48	SBT	SBT		SBT		
21D53	SBT+SSO	SBT+SSO	SBT+SSO	SBT+SSO	SBT+SSO+RFLP	
21D57	SBT+SSO	SBT+SSO+SSP	SBT+SSO+SSP	SBT+SSO	SBT	SBT

表2 過去の参加施設数および方法

	第9回	第10回	第11回	第12回	第13回
	H17	H18	H19	H20	H21
総施設数	10	10	10	10	9
SBT	5	3	3	4	2
SBT+SSO	1	4	5	4	6
SBT+SSP		1	1		
SBT+SSO+SSP	2	1		1	1
SBT+SSO+RFLP	1	1	1	1	
SBT+SSO+RFLP+SSCP	1				

表3 SBT法の使用キット（単位：施設）

キット名	ClassI			ClassII		
	A	B	C	DRB1	DQB1	DPB1
AlleleSEQR	8	8	5	8	2	2
SBTexcellerator	1	1	1	1		
自家製					1	

記しなければならない。H2103では，DRB1*0405がDRB1*040501/0503と表記されていた。DRB1*040501とDRB1*040503のアンビギュイティーを示していると考えられるが，6桁以上の表記はアリルが1つに特定出来た場合のみであるため，この場合は4桁で表記しなければならない。H2104も同様の表記ミスであった。またアリル番号の前に記載するローカス名はDRB1*と表記するべきだが，DR*と記載した施設があった。

以上のように，タイピング不正解の原因のほとんどが表記ミスであった。他検体のタイピング結果は問題なく，おおむね一致していた。

3. まとめ

タイピング不正解の主な原因であったアンビギュイティーにおける表記ミスは，6桁以上のタイピングが可能な高精度タイピング法であるSBT法ならではのミスと言える。SBT法を用いる上では，このような表記法に注意しなければならない。年々登録アリル数が増加しているため，SBT法におけるアンビ

表4　ミスタイプが認められた各施設のタイピング結果（記入は添付データのまま）

	A		B	
施設	H2101		H2101	
21D01	A*2603	-	B*3501/37/42	B*5101/04
21D02	A*2603	-	B*3501//+	B*5101//+
21D08	A*2603	-	B*3501//+	B*5101//+
21D09	A*2603	-	B*3501/42	B*510101
21D18	A*2603	-	B*3501/04/11/+	B*5101/02/04/+
21D25	A*2603	-	B*350101	B*510101
21D48	ND	ND	B*35/53	B*51/78
21D53	A*2603	-	B*3501//+	B*5101//+
21D57	A*2603	-	B*350101	B*510101

ND：増幅不良

DRB1

施設	H2101		H2102		H2103		H2104	
21D02	DRB1*130701	DRB1*140301	DRB1*1401/06/39/+	-	DRB1*0405	DRB1*090102	DRB1*0101/07	DRB1*0701
21D08	DR*130701	DR*140301	DR*1401/06	DR*1406/39/54	DR*0405	DR*090102	DR*0101/07	DR*0701
21D09	DRB1*130701	DRB1*140301	DRB1*1401/54	DRB1*1406	DRB1*0405	DRB1*0901	DRB1*0101/21	DRB1*0701/11
21D18	DRB1*130701	DRB1*140301	DRB1*1401/06	DRB1*1406/39/54	DRB1*0405	DRB1*090102	DRB1*0101/07/21	DRB1*0701/11
21D25	DRB1*130701	DRB1*140301	DRB1*1401/54	DRB1*1406	DRB1*0405	DRB1*090102	DRB1*010101	DRB1*0701
21D48	DRB1*130701	DRB1*140301	DRB1*1401/06	DRB1*1406/39/54	DRB1*0405	DRB1*090102	DRB1*0101/07	DRB1*0701
21D53	DRB1*1307	DRB1*1403	DRB1*1401/06	DRB1*1406/39/54	DRB1*0405	DRB1*0901	DRB1*0101/07	DRB1*0701
21D57	DRB1*130701	DRB1*140301	DRB1*140101/54	DRB1*1406	DRB1*040501/0503	DRB1*090102	DRB1*010101	DRB1*070101/0102

表5　SBT法におけるタイピング結果の正解率

Aローカス・正解率

		報告数	正解数	正解率%
A	H2101	9	8	88.9
	H2102	9	9	100.0
	H2103	9	9	100.0
	H2104	9	9	100.0
合計および平均		36	35	97.2%

DRB1ローカス・正解率

		報告数	正解数	正解率
DRB1	H2101	8	7	87.5
	H2102	8	6	75.0
	H2103	8	6	75.0
	H2104	8	6	75.0
合計および平均		32	25	78.1%

Bローカス・正解率

		報告数	正解数	正解率
B	H2101	9	4	44.4
	H2102	9	9	100.0
	H2103	9	9	100.0
	H2104	9	9	100.0
合計および平均		36	31	86.1%

DQB1ローカス・正解率

		報告数	正解数	正解率
DQB1	H2101	3	3	100.0
	H2102	3	3	100.0
	H2103	3	3	100.0
	H2104	3	3	100.0
合計および平均		12	12	100.0%

Cwローカス・正解率

		報告数	正解数	正解率
Cw	H2101	6	6	100.0
	H2102	6	6	100.0
	H2103	6	6	100.0
	H2104	6	6	100.0
合計および平均		24	24	100.0%

DPB1ローカス・正解率

		報告数	正解数	正解率
DPB1	H2101	2	2	100.0
	H2102	2	2	100.0
	H2103	2	2	100.0
	H2104	2	2	100.0
合計および平均		8	8	100.0%

ギュイティーの問題は更に深刻化する可能性がある

この問題に対処する為に，他タイピングの併用など様々な対策法を用いる工夫をし，可能性を否定できないアリルの存在を明確にすることが大切であると考える。